

**FILTER MATERIAL FOR REMOVING LEUKOCYTE**

**Publication number:** JP5148151

**Publication date:** 1993-06-15

**Inventor:** OKA SHINICHIRO; INATOME HIDEICHIRO

**Applicant:** ASAHI MEDICAL CO

**Classification:**

**- international:** **A61K35/14; A61M1/22; A61M1/34; B01D39/16; B01D71/82; A61K35/14; A61M1/16; A61M1/34; B01D39/16; B01D71/00; (IPC1-7): A61K35/14; A61M1/34; B01D39/16; B01D71/82**

**- european:**

**Application number:** JP19910339576 19911130

**Priority number(s):** JP19910339576 19911130

*Report a data error here*

**Abstract of JP5148151**

**PURPOSE:**To obtain a filter material, useful for blood transfusion and usable for removing leukocytes from the whole blood or an erythrocytic pharmaceutical by introducing acidic functional groups into a nonwoven fabric, a woven fabric or a polymer porous substance. **CONSTITUTION:**The objective filter material is obtained by introducing one or more acidic functional groups (e.g. carboxyl, phosphoric acid or phenol) into a nonwoven fabric, a woven fabric or a polymer porous substance (e.g. polyvinyl formal) having open cells according to a method for radiation grafting, etc. The porosity of the polymer porous substance is 45-95% and the density of the acidic functional groups in the material is 0.05-5mequiv./m<sup>2</sup> based on the surface area of the filter material. Leukocytes can be removed at a higher level than that of a filter material without any acidic functional groups and a lower leukocyte residual ratio can be achieved for blood after filtration. The filter material is suitable for treating collagen disease, leukemia, etc., and extracorporeal circulation type removal of the leukocytes.

.....  
Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 ( J P )

(12) 公 開 特 許 公 報 ( A )

(11) 特許出願公開番号

特開平5-148151

(43) 公開日 平成 5 年 (1993) 6 月 15 日

(51) Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/14		C 9165-4C		
A 6 1 M 1/34	3 1 3	9052-4C		
B 0 1 D 39/16		A 9263-4D		
71/82	5 0 0	8822-4D		

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願平3-339576	(71) 出願人	000116806 旭メデイカル株式会社 東京都千代田区内幸町 1 丁目 1 番 1 号
(22) 出願日	平成 3 年 (1991) 11 月 30 日	(72) 発明者	岡 慎一郎 大分県大分市大字里2620番地 旭メデイカル株式会社内
		(72) 発明者	稲留 秀一郎 大分県大分市大字里2620番地 旭メデイカル株式会社内
		(74) 代理人	弁理士 佐々木 俊哲

(54) 【発明の名称】 白血球除去用フィルター材料

(57) 【要約】

【目的】 全血または赤血球製剤中の白血球を、血液成分に何ら損傷を与えることなく簡便な操作で短時間に高率に除去することを可能にする白血球除去用フィルターを提供する。

【構成】 不織布または織布または連続気孔を有する高分子多孔質体からなり、表面に 1 種以上の酸性官能基を有することを特徴とする、全血もしくは赤血球製剤から白血球を除去するための輸血用フィルター材料。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 不織布または織布または連続気孔を有する高分子多孔質体からなり、表面に1種以上の酸性官能基を有することを特徴とする、全血もしくは赤血球製剤から白血球を除去するための輸血用フィルター材料。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、白血球除去用のフィルター材料に関する。詳しくは、輸血用全血または赤血球製剤から混入白血球を除去するためのフィルター材料に

## 【0002】

【従来の技術】 近年、輸血分野においては、血液製剤中に含まれる混入白血球を除去して輸血する、いわゆる白血球除去輸血が行われるようになってきている。これは、輸血に伴う頭痛、吐き気、悪寒、非溶血性発熱反応などの副作用や、受血者に、より深刻な影響を及ぼすアロ抗原感作、輸血後GVHD、ウィルス感染などの重篤な副作用が、主として輸血に用いられた血液製剤中に混入している白血球が原因で引き起こされることが明らか

になったためである。

【0003】 頭痛、吐き気、悪寒、発熱などの比較的軽微な副作用を防止するためには、1回の輸血で受血者に注入される白血球数を1億個程度以下に抑える必要があるとされており、このためには血液製剤中の白血球の残存率を $10^{-1} \sim 10^{-2}$ 以下になるまで除去する必要がある。またアロ抗原感作は、現在の輸血学分野において最も注目され、その予防が期待されている副作用の1つであるが、これを予防するには、1回の輸血で注入される白血球数を500万個ないしは100万個以下に抑える必要があるとされており、このためには血液製剤中の白血球の残存率を $10^{-4}$ 以下になるまで除去することが必要である。輸血後GVHDやウィルス感染については、いまだ定説はないものの、輸血後GVHD及びサイトメガロウィルスや成人T細胞白血病ウィルスのように、白血球内にのみ存在すると考えられているウィルスについては、白血球残存率 $10^{-4} \sim 10^{-6}$ 以下にまで除去することで、その感染を予防できると期待されている。またHIVの様に、白血球及び血漿の両方に存在するウィルスに関しても、白血球除去により、感染の頻度を下げら

れる可能性がある」と期待されている。

【0004】 血液製剤から白血球を除去する方法には、大別して、遠心分離機を用いて赤血球と白血球の比重の違いを利用して分離する方法と、繊維素材やスポンジ状構造物を濾材とするフィルターを用いて白血球を除去するフィルター法の2種類があるが、ことに不織布を用いて白血球を吸着除去するフィルター法が、白血球除去能に優れていること、操作が簡便であること及びコストが低いことなどの利点を有するため広く用いられている。

【0005】 不織布を用いた白血球除去フィルターのほ

とんどは、平均繊維直径が $3 \sim 30 \mu\text{m}$ 程度の、比較的目の粗い、凝集物を除去するためのプレフィルターと、平均繊維直径が $1 \sim 3 \mu\text{m}$ 程度の繊維からなる白血球を除去するための主フィルターの、機能的に異なる2種類のフィルター要素から構成されている。このうちプレフィルターは、血液入口から血液出口に向かって順に、比較的平均繊維直径が太く目の粗いものから平均繊維直径が細く目の細かいものへと多段階の構成になっているものが好ましいとされている（特公平2-13588号、W089/03717号）。

【0006】 凝集物は、フィブリノーゲン、フィブリン、変性タンパク質、核酸、脂肪球などの血液の変性成分や、白血球、血小板などの細胞成分が凝集してできたもので粘着性に富んでおり、そのサイズも数 $\mu\text{m}$ から $100 \mu\text{m}$ 、場合によっては $1\text{mm}$ を越える、非常に広い分布を有するものである。従って、ふるいで粒子を分離するように、大きな凝集物をまず目の粗いフィルターで捕捉して取り除き、段階的に目を細かくしていくことによって、順次、より小さな凝集物を取り除いていく必要がある。小さな凝集物を除去するために用いるプレフィルターの最も目の細かい層において、一部の白血球がいわば副次的に捕捉されることがあるが、極く一部であって白血球を除くためには、以下に述べる主フィルターを用いなければならない。

【0007】 主たる除去目的である白血球は、直径が $5 \sim 20 \mu\text{m}$ であり、凝集物に比較してはるかに均一なサイズを有しており、フィルターによる除去機構は、繊維による吸着除去であると考えられている。本発明者等は、先に繊維積層物を通過する白血球濃度が、繊維積層物の厚みに対して指数関数的に減少することを見いだし（特開平3-158168号）、これは白血球が繊維積層物を厚み方向に流れていく際に、繊維と繊維の交絡点付近に接触するごとに、一定の確率で吸着されていくことを示唆するものであり、上記の吸着除去説を裏付けている。

【0008】 それ故、従来の白血球除去フィルターにおける主フィルターの高性能化の検討は、もっぱら繊維と白血球との接触頻度を高めること、即ち平均繊維直径を小さくすること、充填密度を高めること、或はより均一な繊維直径分布を有する不織布を用いること（特開平2-203909号）などに集中しており、不織布表面の化学性状に注目したものは少なかった。

【0009】 不織布表面の化学性状に着目した数少ない検討例としては、特開平1-249063号、特公表3-502094号等があるが、前者は血小板の通過性を向上させるのが表面改質の目的であり、後者は親水性を付与して血液によるプライミングを容易にするのが目的であって、何れも白血球の吸着確率を高めるのが目的ではなく、これらの表面化学修飾によって、白血球の吸着確率が向上したという記載もない。

【0010】またW087/05812号には、不織布に至適量の塩基性官能基と非イオン性親水基とを含むポリマーをコーティングする等の方法により、血小板の通過性が高まると同時に白血球の除去率も高まることが実施例で開示され、またより多くの塩基性官能基を含むポリマーを用いると血小板、白血球ともに除去率が高まることが比較例に記載されている。細胞の表面が一般に負の電荷を有していることを考えると、塩基性官能基を有するポリマーによって白血球の除去率が高まるのは、生理的条件下で正の電荷を有する塩基性官能基と細胞表面の負電荷との間にイオンの結合力が働くためと考えられ、極めて妥当な結果と考えられる。

【0011】また、白血球の亜分画を分離する技術として、カルボキシル基を有する水不溶性の固体物質（特開昭55-136230号）、酸性官能基を含有する水不溶性固体物質（特開昭55-149839号）、酸性官能基を含有する粒状疎水性固体物質（特開昭56-152740号）等が開示されているが、ここでは、酸性官能基は、白血球の中の特定の亜群の吸着性を低めるものとして用いられており、この作用によって該亜群を吸着させずに回収し、酸性官能基の存在によっても吸着性が低下しない細胞群と上記亜群とを分離することを目的としている。

【0012】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、不織布、または織布または高分子多孔質体を用いた白血球除去用フィルター材料において、フィルター材料表面の化学的性状が白血球の吸着確率にどのような影響を与えるかについて、本格的に検討したものはなかった。本発明の目的は、白血球除去能力の高いフィルター材料を提供すること、より詳しくは不織布、織布、高分子多孔質体などからなる白血球除去用フィルター材料において、これら材料表面に一定の化学的性質を与えることによって、より白血球除去能力の高いフィルター材料を提供することにある。

【0013】

【課題を解決するための手段】本発明者等は上記の目的を達成すべく放射線グラフト法によって不織布表面に直接重合させ、これらの表面修飾の効果を検討した結果全く意外なことに、酸性官能基を不織布表面に導入した場合に、導入前に比べて明らかな白血球除去能の改善効果が得られることを見出し、本発明を完成させるに至った。即ち、本発明は不織布または織布または連続気孔を有する高分子多孔質体からなり、表面に1種以上の酸性官能基を有することを特徴とする、全血もしくは赤血球製剤から白血球を除去するための輸血用フィルター材料である。

【0014】本発明におけるフィルター材料は、メルトブロー法やフラッシュ紡糸法あるいは抄造法等により作成された不織布の他、紙、織布、メッシュ及び多孔質体

などの公知のフィルター材料のいずれの形態であってもよいが、不織布は特に好適な形態である。なお、ここで不織布とは、編織によらずに繊維あるいは糸の集合体が、化学的、熱的、または機械的に結合された布状のものをいう。繊維と繊維とが互いに接触することによる摩擦により、あるいは互いにもつれ合うことなどにより一定の形状を保っている場合、機械的に結合されたことに含める。

【0015】また繊維素材の例を挙げるならば、ポリアミド、芳香族ポリアミド、ポリエステル、ポリアクリロニトリル、ポリトリフルオロクロロエチレン、ポリメチルメタアクリレート、ポリスチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン等の合成繊維や、セルロース、セルロースアセテート等の再生繊維などである。

【0016】不織布及び織布からなる本発明のフィルター材料は、その平均繊維直径が0.3~10 $\mu$ mであることがより好ましく、0.3~3 $\mu$ mであることがより好ましく、更に0.5~1.8 $\mu$ mであることがより好ましい。平均繊維直径が0.3 $\mu$ m未満の場合には、全血や赤血球製剤を濾過する際の圧力損失が高すぎて実用的でない恐れがあり、逆に10 $\mu$ mを越えると繊維と白血球との接触確率が低すぎるために、本発明の効果が十分に発揮されないおそれが強まるためである。

【0017】なお、ここで平均繊維直径とは、以下の手順に従って求められる値をいう。即ちフィルター素子を構成する1枚または複数枚の不織布または織布から実質的に均一と認められるフィルター素子の一部分をサンプリングし、走査電子顕微鏡などを用いて、写真に撮る。サンプリングに際しては、フィルター素子を1辺が0.5cmの正方形によって区分し、その中から6ヶ所をランダムサンプリングする。ランダムサンプリングするには、例えば上記各区分に番地を指定した後、乱数表を使うなどの方法で、必要ヶ所の区分を選べば良い。また初めにサンプリングした3区分は、一方の面（便宜上以下A面と呼ぶ）について、また残りの3区分は他方の面（便宜上以下B面と呼ぶ）について、その中央部分を拡大倍率2500倍で写真に撮る。サンプリングした各区分について中央部分及びその近傍の箇所の写真を撮っていき、その写真に撮られた繊維の合計本数が100本を超え、かつ最もその数が少ない本数になるまで写真を撮る。このようにして得た写真について、写っている全ての繊維の直径を測定する。ここで直径とは、繊維軸に対して直角方向の繊維の幅をいう。測定した全ての繊維の直径の和を、繊維の数で割った値を平均直径とする。但し、複数の繊維が重なり合っており、他の繊維の陰になってその幅が測定できない場合、また複数の繊維が溶融するなどして、太い繊維になっている場合、更に著しく直径の異なる繊維が混在している場合、等々の場合には、これらのデータは削除する。また、A面とB面とで明らかに平均繊維直径が異なる場合には、もはやこれを



単一なフィルター素子とは認めない。ここで「明らかに平均繊維直径が異なる」とは統計的に有意差が認められる場合をいう。この場合はA面側とB面側とを異なるフィルター素子としてとらえ、両者の境界面を見つけた後両者の平均繊維直径を別々に測定し直す。

【0018】なお、ここでフィルター素子とは、不織布または織布よりなる繊維布層の1層または複数層から構成され、該繊維布層の各平均繊維直径は該複数繊維布層全体の平均繊維直径と実質的に同じである繊維布構造体である。

【0019】また不織布及び織布からなる本発明のフィルター材料を容器内に充填し、白血球除去フィルターシステムとして用いる場合には、不織布または織布の充填密度は、 $0.1 \sim 0.4 \text{ g/cm}^3$  であることが好ましく、 $0.15 \sim 0.38 \text{ g/cm}^3$  であることがより好ましい。 $0.1 \text{ g/cm}^3$  未満の場合には、機械的強度が不足し、血液を濾過させる際に変形する恐れがあるため好ましくなく、 $0.4 \text{ g/cm}^3$  を越えると不織布または織布の反発力が高すぎて、容器内に充填することが困難になるため好ましくない。なお、ここで不織布または織布の充填密度とは、容器内に納められた状態での有効濾過断面積部分についての不織布または織布の重量を、不織布の（有効濾過断面積×厚み）で割った値である。

【0020】また本発明において好適に使用し得る高分子多孔質体の例を挙げるならば、ポリビニルホルマール、ポリアクリロニトリル、ポリスルホン、セルロース、セルロースアセテート、ポリウレタン、ポリビニルアセタール、ポリエステル、ポリアミド、ポリ（メタ）アクリレート等である。高分子多孔質体は、平均気孔径が $1 \sim 60 \mu\text{m}$ であることが好ましく、 $1 \sim 30 \mu\text{m}$ であることがより好ましく、更に $1 \sim 20 \mu\text{m}$ であることがより好ましい。 $1 \mu\text{m}$ 未満では、赤血球の通過が困難になる恐れがあるため好ましくなく、逆に $60 \mu\text{m}$ を越えると多孔質体と白血球との接触確率が低すぎるために、本発明の効果が十分に発揮されない恐れが強まるため好ましくない。

【0021】また、高分子多孔質体の空隙率は $45 \sim 95\%$ であることが好ましく、 $70 \sim 95\%$ がより好ましく、更に $80 \sim 95\%$ がより好ましい。 $45\%$ 未満では、赤血球を通過させる空間を十分に提供できない恐れがあり、逆に $95\%$ を越えると機械的強度が不足する傾向があるため好ましくない。

【0022】また本発明の酸性官能基は、フィルター材料を構成する高分子自身が持つ酸性官能基であっても、また本来酸性官能基を持たないフィルター材料に、酸性官能基を有する低分子物、高分子物などを共有結合、イオン結合、物理吸着、包埋あるいは材料表面への沈殿不溶化等あらゆる公知の方法を用いて固定することによって導入しても良く、またエステル化合物からなるフィル

ター材料、もしくはエステル化合物を固定化したものをアルカリ加水分解して、酸性官能基を生じさせても良いが、放射線グラフトやプラズマグラフトによって、酸性官能基を有するモノマーをグラフト重合して行く方法及び、酸性官能基を含む重合体をフィルター材料の表面にコーティングする方法が白血球除去能力の改善効果が高いため好ましく、また比較的簡便に製造可能で、且つ性能の安定性にも優れるため好ましい。なお、コーティングをする場合には、フィルター材料からの脱落を防ぐため、コーティング後にポリマーを架橋することが好ましい。

【0023】これらの好ましい手法によってフィルター材料表面に固定化出来る酸性官能基を有する物質の例を挙げるならば、グラフト重合により固定化出来る物質としては、アクリル酸、メタアクリル酸、2-メタクリロイルオキシエチルコハク酸、モノ（2-メタクリロイルオキシエチル）アシッドフォスフェート、2-スルホエチルメタクリレート等のアクリル酸もしくはメタアクリル酸の誘導体や、p-スチレンスルホン酸ナトリウム等のスチレン誘導体、ビニルフェノール等のフェノール誘導体、アリルスルホン酸ナトリウム等のアリル化合物等の各種のビニルモノマー、アセチレン誘導体、トリオキサン誘導体、等であるが、特にビニルモノマーが重合性が高く、モノマーの入手も比較的簡単であるため好ましい。また、コーティングによって固定化出来る物質としては、上記のモノマーを重合して得られる高分子化合物、さらにはこれらのモノマーと重合性官能基、好ましくはビニル基またはアセチレン基を有する中性のモノマーとの共重合体として得られる高分子化合物などがある。

【0024】本発明における材料の酸性官能基の密度はフィルター材料の表面積あたり、 $0.05 \sim 5 \text{ meq/m}^2$  であることが好ましく、 $0.08 \sim 1 \text{ meq/m}^2$  であることがより好ましく、更に $0.1 \sim 0.5 \text{ meq/m}^2$  がより好ましい。 $0.05 \text{ meq/m}^2$  未満では、官能基の種類によっては、十分な効果が得られない場合があるため好ましくなく、また $5 \text{ meq/m}^2$  を超えると、放射線グラフトやポリマーコーティングなどの方法で不織布、織布、高分子多孔質体の表面に官能基を導入する場合に、材料表面に導入されたポリマーなどの量が過多で、フィルター材料の空隙を塞ぎ、処理しようとする血液製剤の流れを著しく阻害するおそれがあるため好ましくない。

【0025】本発明においては、酸性官能基であれば良好な結果が得られるが、水中の $\text{pK}_a$ が $1 \sim 6.5$ であることが好ましく、 $1 \sim 5.5$ であることがより好ましい。また、酸性官能基の好ましい例を挙げるならば、カルボキシル基、リン酸基、スルホン酸基、フェノール基などである。

【0026】酸性官能基がフィルター材料表面に存在す

ることではなぜ白血球除去能を高める効果があるのかについては不明な点が多い。本来生理的条件下で負の電荷を有している細胞と、生理的条件下で同じく負の電荷を有する酸性官能基との間には静電的な反発力が働いてもよさそうであるが、恐らくは細胞が該材料表面に吸着するよりも早く、血漿に含まれるある種のタンパク質が吸着し、このタンパク質の仲介によつて白血球の吸着が促進されるのではないと思われる。なお本発明のフィルター材料は、膠原病や白血病などの治療を目的として行われる、体外循環型白血球除去療法用のフィルター材料としても好適に用いることができる。

【0027】なお、本発明において全血1単位とは400～500ml（全血1単位で規定される血液量は国により異なり、例えば日本では400ml、ドイツでは500ml、アメリカ、フランスなどでは450mlである）の採血した血液にCPD、CPDA、ACDなどの抗凝固剤を必要量添加したものをいい、赤血球製剤1単位とは、全血1単位から血漿の一部もしくは多血小板血漿、パフィーコートを取り除いて調製した赤血球濃厚液、及び赤血球濃厚液にAdsol, Neutrice 1, SAGM、MAPなどの赤血球保存剤を加えたものをいう。

【0028】

【発明の効果】本発明の白血球除去用のフィルター材料を用いて全血または赤血球製剤中の白血球除去を行うと、酸性官能基を持たないフィルター材料に比し、より高度に白血球を除去することができ、濾過後の血液についてより低い白血球残存率を達成することが出来る。

【0029】

【実施例】次に実施例を挙げて、本発明をより詳細に説明する。

【実施例1】30%エタノール/70%水(v/v)に、モノ(2-メタクリロイルオキシエチル)アシッドフォスフェートを2%（重量%）の濃度になるように加え、重合溶液を調整した。メルトブロー法により作成した、平均繊維直径1.7 $\mu$ mのポリエステル不織布を該重合溶液に浸し、窒素バブリングを行って、重合溶液中の溶存ガスを窒素置換した後密封し、Co<sup>60</sup>を線源とする $\gamma$ 線を2kGy照射し、放射線グラフト重合法によって、不織布表面に上記モノマーの重合体を導入した。照射が終了した後、不織布を30℃の温水中で2時間洗浄し、40℃の温風で一晩乾燥させた。

【0030】この不織布の表面酸性官能基の定量を次の方法で行った。不織布0.3gを細かく切断し、エタノール4mlを加えて1時間放置し、エタノールを除去後、4%塩化ナトリウム水溶液30mlを加えて12時間攪拌した。不織布を除去した後の溶液を15ml精秤し、これを0.01N水酸化ナトリウム水溶液により滴定し、この中和点より、酸性官能基の量を測定した。この値と、BET法を用いて測定した不織布の比表面積値

とから、不織布の表面酸性官能基密度を算出した。その結果、この不織布の表面酸性官能基密度は、0.096 meq/m<sup>2</sup>であった。該不織布を、充填密度0.20 g/cm<sup>3</sup>、厚み4.0mmになるように、有効濾過断面積30mm×30mmの容器に充填し、白血球除去フィルターを作成した。

【0031】450mlの血液に63mlのCPDを加えて調製した全血523mlから、採血後8時間以内に遠心分離によって多血小板血漿243mlを除去して調製し、4℃で19日間保存した赤血球製剤（ヘマトクリット68%）を、25℃になるまで室温（26℃）に放置した後、スパンボンド法により製造された、平均繊維直径32 $\mu$ m及び13 $\mu$ mの不織布を、平均充填密度0.28 g/cm<sup>3</sup>、厚み3.5mmになるように、有効濾過断面積67mm×67mmの容器に充填して作成したプレフィルターで処理し、微小凝集物を除去した後、該赤血球製剤約60mlを新しい血液バッグに移し、上記のフィルターで濾過した。

【0032】濾過を開始するに当たり、フィルターを血液回路を介して赤血球製剤が入っている血液バッグに接続した後、血液バッグを手でつかんで加圧し、強制的にフィルター内に血液を満たした。かくして血液がフィルター内に満たされた後、ペリスタポンプを用いて2ml/分の一定流速で流し続け、血液バッグ内の血液がなくなった時点で濾過を終了し、フィルター下流に血液回路を介して接続した回収バッグをフィルターの血液出口の下流30～40cmのところ回路ごと切断し、回路及び回収バッグ内の赤血球製剤を回収液とした。

【0033】濾過前の赤血球製剤（以下、濾過前液という）及び回収液の体積、白血球数を測定し白血球残存率を求めた。

白血球残存率＝{白血球数（回収液）} / {濾過前液体積×白血球濃度（濾過前液）}

なお、濾過前液及び回収液の体積は、各々の重量を比重1.075で割った値とした。また濾過前液の白血球濃度の測定は次の方法で行った。濾過前液の白血球濃度の測定：チュルク液によって、10倍希釈した濾過前液をバーカーチュルク型の血球計算板に注入し、光学顕微鏡を用いて大区画4区画中に存在する白血球をカウントし、この値をn<sub>pr</sub>とした。

白血球濃度＝n<sub>pr</sub> × (1/4) × 10<sup>5</sup> 個/ml

【0034】また、回収液の白血球数の測定は、以下に記す、極めて高感度の方法によった。回収液の入ったバッグ内に5%フィコール400DLのEBSS溶液（以下フィコール液という）を回収液と同容量を振とう混和しながら加え、血漿分離スタンド上で回収バッグを固定し、40分静置した。静置後、沈降している赤血球層を乱さぬように、静かに上澄を回収した後、再びフィコールを前回と同容量回収液バッグに加え、同様の操作を繰り返した。2回の操作により回収された上澄をコーニン

グ25350遠心チューブに分注し、 $840\times g$ 、15分遠心し、沈査を吸い上げぬように注意しながら、上澄をアスピレータで廃棄した。各遠心チューブに200mlの溶血液（1.145%しゅう酸アンモニウム生理食塩液）を加えて振とう混和し、ただちに $468\times g$ 、10分間遠心し、全述と同様の注意を払いながら、上澄をアスピレータで廃棄した。

【0035】沈査を15mlの遠心チューブに集め、溶血液を加えて全量を15mlとした後、10分間室温に\*

$$\text{白血球数(回収液)} = \frac{n_{\text{post}} \times (1/108) \times 10^4 \times 0.55 \times (1/0.55)}{55}$$

【0036】下線部が回収液からフィコール液を用いて最終的に0.55mlまで濃縮した液（以下濃縮液という）中の白血球濃度（個/ml）であり、これに濃縮液の体積0.55mlを乗じて白血球数を算出する。更に0.55で割るのは、フィコール液を用いて白血球を回収する際の回収率が55%であるためである。以下の結果、白血球残存率は $10^{-3.7}$ であった。

【0037】

【比較例1】メルトブロー法により製造された平均繊維直径1.7 $\mu m$ のポリエステル不織布をそのまま（放射線グラフトをせずに）用いた以外は、実施例1と同一の条件で実験を行った。その結果、白血球残存率は $10^{-2.6}$ であった。なお、本不織布の表面酸性官能基密度を測定した結果、検出限界（0.05mcq/m<sup>2</sup>）以下であった。

【0038】

【実施例2】モノ（2-メタクリロイルオキシエチル）アシッドフォスフェートの代わりに、2-メタクリロイルオキシエチルコハク酸を用いた以外は、実施例1と同一の条件で実験を行った。その結果、白血球残存率は $10^{-3.4}$ であった。なお、本不織布の表面酸性官能基密度を測定した結果、0.114mcq/m<sup>2</sup>であった。

【0039】

【実施例3】モノ（2-メタクリロイルオキシエチル）アシッドフォスフェートの代わりに、メタクリル酸とメチルメタアクリレートの3対1（モル比）混合物を40%エタノール/60%水（vol/vol）に2%（重量%）の濃度になるように加え、重合溶液を調整した以

\*静置し、 $468\times g$ 、10分間遠心し、沈査を含む0.5mlを残し、上澄を慎重に廃棄した。沈査を含む液を十分に攪拌して単一細胞浮遊液とした後、蛍光染色液（69.9mg/1アクリジンオレンジ液）50 $\mu l$ を加え、更に攪拌した。この液を、改良型ノイパウエル式血球計算板6枚に注入し、落射式蛍光顕微鏡を用いて大区画108区画中に存在する白血球をカウントした。このカウント値 $n_{\text{post}}$ から次式によって、白血球数（回収液）を算出した。

外は、実施例1と同一の条件で実験を行った。その結果、白血球残存率は $10^{-3.2}$ であった。なお、本不織布の表面酸性官能基密度を測定した結果、0.056mcq/m<sup>2</sup>であった。

【0040】

【実施例4】モノ（2-メタクリロイルオキシエチル）アシッドフォスフェートの代わりに、2-メタクリロイルオキシエチルコハク酸とメチルメタアクリレートの3対1（モル比）混合物を40%エタノール/60%水（vol/vol）に2%（重量%）の濃度になるように加え、重合溶液を調整した以外は、実施例1と同一の条件で実験を行った。その結果、白血球残存率は $10^{-3.6}$ であった。なお、本不織布の表面酸性官能基密度を測定した結果、0.064mcq/m<sup>2</sup>であった。

【0041】

【実施例5】モノ（2-メタクリロイルオキシエチル）アシッドフォスフェートの代わりに、モノ（2-メタクリロイルオキシエチル）アシッドフォスフェートとメチルメタアクリレートの3対1（モル比）混合物を40%エタノール/60%水（vol/vol）に2%（重量%）の濃度になるように加え、重合溶液を調整した以外は、実施例1と同一の条件で実験を行った。その結果、白血球残存率は $10^{-3.2}$ であった。なお、本不織布の表面酸性官能基密度を測定した結果、0.090mcq/m<sup>2</sup>であった。以上の実施例1～5及び比較例1の結果を表1にまとめて示す。

【0042】

【表1】



	酸性官能基	表面酸性官能基密度	白血球残存率
実施例 1	磷酸基	$0.096 \text{ meq/m}^2$	$10^{-3.7}$
実施例 2	カルボキシル基	$0.114 \text{ meq/m}^2$	$10^{-3.4}$
実施例 3	カルボキシル基	$0.056 \text{ meq/m}^2$	$10^{-3.2}$
実施例 4	カルボキシル基	$0.064 \text{ meq/m}^2$	$10^{-3.6}$
実施例 5	磷酸基	$0.090 \text{ meq/m}^2$	$10^{-3.2}$
比較例 1	—	検出限界以下	$10^{-2.6}$

## 【0043】

【実施例6】5%第3級ブタノール/95%水(v/v)に、p-スチレンスルホン酸ナトリウムを2% (重量%)の濃度になるように溶解し、重合溶液を調整した。メルトブロー法により作成した、平均繊維直径1.7 $\mu\text{m}$ のポリエステル不織布及び同じくメルトブロー法により作成した、平均繊維直径1.2 $\mu\text{m}$ のポリエステル不織布を該重合溶液に浸し、窒素バブリングを行って、重合溶液中の溶存ガスを窒素置換した後密封し、 $\text{Co}^{60}$ を線源とする $\gamma$ 線を2.5kGy照射し、放射線グラフト重合法によって、不織布表面に上記モノマーの重合体を導入した。照射が終了した後、不織布を30℃の温水中で2時間洗浄し、40℃の温風で一晩乾燥させた。

【0044】プレフィルターとしてスパンボンド法により製造された、平均繊維直径32 $\mu\text{m}$ 及び13 $\mu\text{m}$ の不織布を、平均充填密度0.28g/cm<sup>3</sup>、厚み1.1mmになるように、有効濾過断面積67mm×67mmの容器に充填し、同一容器内下流側に、主フィルターとして、上位の平均繊維直径1.7 $\mu\text{m}$ の不織布を、充填密度0.26g/cm<sup>3</sup>、厚み3.0mmになるように充填し、更にその下流側に同じく上記の平均繊維直径1.2 $\mu\text{m}$ の不織布を、充填密度0.32g/cm<sup>3</sup>、厚み2.0mmになるように充填し、白血球除去フィルターを作成した。450mlの血液に63mlのCPDを加えて調製した全血523mlから、採血後8時間以内に遠心分離によって多血小板血漿243mlを除去して調製し、4℃で3日間保存した後、生理食塩水を加えて360mlとした赤血球製剤(ヘマトクリット55%)を、25℃になるまで室温(26℃)に放置した後、上記のフィルターで濾過した。濾過を開始するに当たり、フィルターを血液回路を介して赤血球製剤が入っている血液バッグに接続した後、血液バッグを手でつか

んで加圧し、強制的にフィルター内に血液を満たした。かくして血液がフィルター内に満たされた後、落差1.5mで血液を流し、血液バッグ内の血液がなくなった時点で濾過を終了し、フィルター下流に血液回路を介して接続した回収バッグをフィルターの血液出口の下流30～40cmのところで回路ごと切断し、回路及び回収バッグ内の赤血球製剤を回収液とした。白血球残存率は実施例1と同様の方法で求めた。その結果、白血球残存率は $10^{-6.0}$ であった。

【0045】なお、4%塩化ナトリウムの代わりに0.01Nの塩酸を用い、不織布を除去した後の溶液を0.01N水酸化ナトリウム水溶液で滴定し、この中和点より減少した塩酸の量を求めて、この量を酸性官能基の量としたこと以外は、実施例1と同様の方法により本不織布の表面酸性官能基密度を測定した。その結果、平均繊維直径1.7 $\mu\text{m}$ の不織布は0.243meq/m<sup>2</sup>、平均繊維直径1.2 $\mu\text{m}$ の不織布は0.291meq/m<sup>2</sup>であった。

## 【0046】

【比較例2】主フィルターとして、放射線グラフト処理を行っていない平均繊維直径1.7 $\mu\text{m}$ のポリエステル不織布及び平均繊維直径1.2 $\mu\text{m}$ のポリエステル不織布を用いた以外は、実施例6と同一の条件で実験を行った。その結果、白血球残存率は $10^{-4.5}$ であった。なお、本不織布の表面酸性官能基密度を測定した結果、検出限界(0.05meq/m<sup>2</sup>)以下であった。

## 【0047】

【実施例7】90%エタノール/10%水(v/v)溶液に、2-メタクリロイルオキシエチルコハク酸を0.75mol/l、メチルメタアクリレートを0.25mol/lの濃度になるように加え、全量を250mlとした。ラジカル開始剤としてV-65を0.02mol/lの濃度になるように加え、窒素雰囲気



下、45℃で3時間重合させた後、蒸留水に滴下して析出してきた物質を集めて、凍結乾燥し、2-メタクリロイルオキシエチルコハク酸とメチルメタアクリレートとの共重合体を得た。プレフィルターとしてスパンボンド法により製造された、平均繊維直径32 $\mu$ m及び13 $\mu$ mの不織布を、平均充填密度0.4g/cm<sup>3</sup>、厚み0.7 $\mu$ mに、またエアレイ法により製造された平均繊維直径12 $\mu$ mの不織布及び抄造法により製造された平均直径4.1 $\mu$ mの不織布を、平均充填密度0.30g/cm<sup>3</sup>、厚み0.5mmになるように、有効濾過断面積90mm×90mmの容器に充填し、同一容器内下流側に、主フィルターとして、メルトブロー法により製造された、平均繊維直径1.7 $\mu$ mのポリエステル不織布を、充填密度0.38g/cm<sup>3</sup>、厚み0.7mmになるように充填し、更にその下流側に同じくメルトブロー法により製造された、平均繊維直径1.2 $\mu$ mのポリエステル不織布を、充填密度0.38g/cm<sup>3</sup>、厚み2.5mmになるように充填した後、上記の共重合体を90%エタノール/10%水(v/v)溶液に、0.05g/dlの濃度になるように溶解した共重合体溶液を上記の容器に充填し、次いで窒素ガスによって共重合体溶液を追い出した後、10分間窒素ガスを流

し続け、更に室温で一晩真空乾燥させることにより、上記の共重合体をコーティングして白血球除去フィルターを作成した。

【0048】400mlの血液に56mlのCPDを加えて調製した全血456mlから、採血後8時間以内に遠心分離によって多血小板血漿200mlを除去して調製し、4℃で14日間保存した赤血球濃厚液(ヘマトクリット67%)を、25℃になるまで室温(26℃)に放置した後、該赤血球濃厚液2単位を600mlの血液バッグに集め、上記のフィルターで濾過した。落差1.2mで濾過を行った以外は、実施例6と同様の方法で実験した。その結果、白血球残存率は $10^{-5.6}$ であった。なお、本不織布の表面酸性官能基密度を測定した結果、平均繊維直径1.7 $\mu$ mの不織布は0.095meq/m<sup>2</sup>、平均繊維直径1.2 $\mu$ mの不織布は0.152meq/m<sup>2</sup>であった。

【0049】

【比較例3】共重合体のコーティングを行わなかったこと以外は、実施例7と同一の条件で実験を行った。その結果、白血球残存率は $10^{-4.5}$ であった。なお、本不織布の表面酸性官能基密度を測定した結果、検出限界(0.05meq/m<sup>2</sup>)以下であった。